

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/84483>

Please be advised that this information was generated on 2019-10-22 and may be subject to change.

Van de regen in de drup

De werking van de cel bestuderen
in een waterdruppel

INAUGURELE REDE DOOR PROF. DR. WILHELM HUCK

Radboud Universiteit Nijmegen



INAUGURELE REDE

PROF. DR. WILHELM HUCK



De revolutie in genetica, denk aan het ontrafelen van het menselijk genoom, heeft een gedetailleerde lijst van onderdelen voor een levende cel geleverd. De werking van de afzonderlijke onderdelen wordt stapje voor stapje zichtbaar en zal uiteindelijk resulteren in een overzichtskaart waarop alle dwarsverbanden aange-

geven zijn. Wat echter ontbreekt is een begrip van hoe het collectief van deze interacties daadwerkelijk een levende cel vormt. In zijn oratie beschrijft Wilhelm Huck hoe hij de complexiteit van de cel op chemisch niveau in kaart wil brengen. Pas dan kunnen we echt begrijpen hoe een cel functioneert. Met nieuwe kennis over de interacties en reactiviteit van moleculen binnen cellen kunnen we in de toekomst het ontstaan van onder andere kanker begrijpen en veel gericht beter werkende medicijnen ontwikkelen.

Wilhelm Huck is sinds 1 januari 2010 hoogleraar Fysisch Organische Chemie aan de Radboud Universiteit Nijmegen. Hij studeerde chemie in Leiden en promoveerde bij prof. David Reinhoudt bij het MESA+ instituut aan de Universiteit Twente. Na een postdoc aan de Harvard University (us) ging hij werken bij de Faculteit Chemie van de Universiteit van Cambridge waar hij in 2004 directeur werd van het Melville Laboratory for Polymer Synthesis en in 2007 hoogleraar Macromolecular Chemistry. Voor zijn werk ontving hij verschillende prijzen, zoals in 2009 de Friedrich Wilhelm Bessel Research Award van de Von Humboldt-Stiftung. Ook ontving hij recent een ERC advanced grant van de European Research Council (2010) en een VICI-subsidie van de Nederlandse organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (2011).

VAN DE REGEN IN DE DRUP
DE WERKING VAN DE CEL BESTUDEREN IN EEN WATERDRUPPEL

Van de regen in de drup

De werking van de cel bestuderen in een waterdruppel

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar Fysisch organische chemie aan de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica van de Radboud Universiteit Nijmegen op vrijdag 25 maart 2011

door prof. dr. Wilhelm Huck

Vormgeving en opmaak: Nies en Partners bno, Nijmegen
Fotografie omslag: Dick van Aalst
Drukwerk: Van Eck & Oosterink

© Prof. dr. Wilhelm Huck, Nijmegen, 2011

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar worden gemaakt middels druk, fotokopie, microfilm, geluidsband of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de copyrighthouder.

*Mijnheer de rector magnificus
Geachte aanwezigen*

INLEIDING

Van de regen in drup. Cambridge staat bekend om de mooie groen gazons die er bij elk college te vinden zijn en daar is natuurlijk veel water voor nodig. Ik ben echter niet uit Cambridge vertrokken omdat het er te vaak zou regenen. Dat doet het namelijk niet, en op een bordje in de botanische tuin in Cambridge is te lezen dat het de droogste plek in West-Europa is ten noorden van de Pyreneeën. Ik ben naar Nijmegen gekomen omdat ik me helemaal wil concentreren op een nieuw onderwerp: de fysisch-organische chemie van de cel. Dit klinkt wellicht vreemd voor een nieuwe hoogleraar met als leeropdracht fysisch-organische chemie. Toch wil ik u er vandaag van overtuigen dat de werkelijke uitdagingen voor de chemie te vinden zijn in de cel. Ik denk dat ik aan het begin sta van een groot avontuur en om de uitdaging in perspectief te plaatsen ga ik u in deze oratie meenemen op een ontdekkingsreis door het binnenste van de cel. Ik waarschuw nu al dat deze ontdekkingsreis af en toe nogal ingewikkeld zal worden. Dat is niet mijn schuld, hoewel het natuurlijk mijn taak is om tijdens deze oratie inzichtelijk te maken waar ik me mee bezig ga houden, maar het feit is dat het onmogelijk is om niet overdonderd te raken door de ongelooflijke complexiteit van de cel. In deze lezing zal ik proberen uit te leggen waarom die cel nou zo'n ongewoon complex systeem is en op welke specifieke onderdelen ik als hoogleraar fysisch-organische chemie ga proberen de werking van cellen beter te begrijpen. Ik zal aan het einde van mijn lezing uitleggen dat er achter de fundamentele wetenschap ook een algemeen maatschappelijk belang schuilt, dat kan profiteren van de uitkomsten van mijn onderzoek.

DRUPPELS ALS REAGEERBUISJES

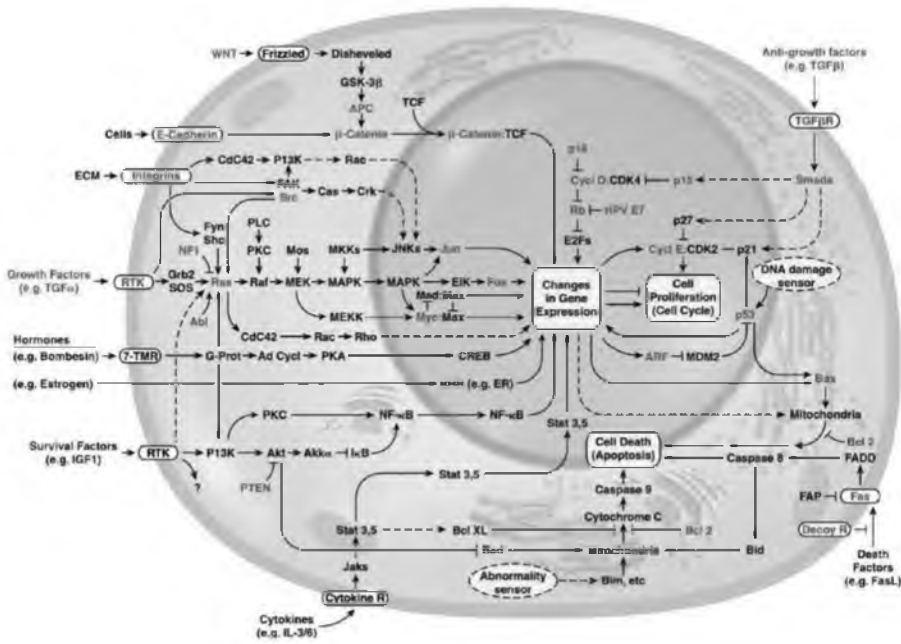
Van de regen in de drup. Mijn verhuizing naar Nijmegen heeft wel degelijk te maken met druppels. Beter gezegd een fijne mist. Meer dan vijftig jaar geleden schreef Nobelprijswinnaar Joshua Lederberg: 'Many methods have been proposed for single cell isolation with or without gadgetry. Another procedure is described now, not for any novelty in its principles, but to encourage its wider application in teaching and research.' (*Journal of Bacteriology* 1954, 68, 258). Deze methode bestond uit het vernevelen van een zeer verdunde suspensie van bijvoorbeeld bacteriën. Vanwege de grote verdunning en het kleine femtoliter tot picoliter volume van de druppels bevatten deze statistisch gezien geen of maximaal één cel. De druppels werden opgevangen op een glasplaat met daarop een laag olie. Zodoende kan elke druppel beschouwd worden als een reactiekolfje voor een individuele cel. Slechts vier jaar later (*Nature* 1958, 181, 1419) publiceerde hij een baanbrekend artikel waarin hij met behulp van deze druppels kon bewijzen dat cellen van het menselijk afweersysteem slechts één type antilichaam kunnen maken. Omdat de cellen afzonderlijk gevangen zaten in een druppel, kon hij er met een pipet eerst één of

enkele bacteriën van een bepaalde soort aan toevoegen. De cellen konden dan een antilichaam maken om de bacteriën te doden. Wanneer hij vervolgens een tweede soort bacterie toevoegde waren de cellen nooit in staat deze ook te doden, omdat ze zich al gespecialiseerd hadden op het maken van het eerste type antilichamen. Ondanks dit grote succes is Lederbergs aanpak nooit een standaardprocedure in de chemie en biologie geworden en daar zijn goede redenen voor die zo dadelijk uitgebreid aan bod zullen komen. Allereerst wil ik uitleggen waarom ik geïnteresseerd ben in technieken die zulke ongelooflijke kleine volumes zo eenvoudig kunnen manipuleren.

DE COMPLEXE CEL

Een picoliter is ongeveer het volume van een cel en de cel zal centraal staan in mijn onderzoek in Nijmegen. De menselijke cel is de meest ingewikkelde chemische reactor die er bestaat. Laat ik allereerst de verschillen schetsen tussen de cel en de omgeving waar wij chemici ons thuis voelen, een laboratorium. Levende cellen, of dat nou cellen uit een menselijk lichaam, plantencellen of bacteriën zijn, produceren een ongelooflijk divers spectrum van honderdduizenden verschillende moleculen (groot of klein). Deze synthese gebeurt bij kamertemperatuur en in water. Er zijn geen organische oplosmiddelen, geen hoge druk, geen temperaturen van 400 graden Celsius of meer, geen grote fabrieken voor nodig. Ik wil niet zeggen dat chemici hun vak niet verstaan en dat we Pernis moeten vervangen door bioreactoren, integendeel, de chemie is van onmisbaar belang in onze samenleving (denk aan medicijnen, materialen en energie). Maar ondanks het feit dat we zo'n beetje elk molecuul kunnen synthetiseren dat we maar willen (hoewel het soms lang duurt) en ondanks de enorme progressie in ons begrip van hoe moleculen met elkaar reageren en de nieuwste analytische apparatuur om bijzonder gevoelig en precies metingen te kunnen doen, is een chemisch lab toch eigenlijk niet zo heel anders dan de eerste laboratoria zoals die bijvoorbeeld door Justus von Liebig 150 jaar geleden werden ingericht. Daarmee wil ik eigenlijk vooral aangeven dat de manier waarop wij denken over reacties al heel lang onveranderd is. Wij hebben de afgelopen 150 jaar niet zo heel veel geleerd van die bijzondere chemische fabrieken die we in de natuur tegenkomen. We weten inmiddels hoe de individuele bouwstenen als DNA en eiwitten functioneren op moleculair niveau. Maar een cel is veel meer dan slechts de som van alle onderdelen. Doordat er zoveel verschillende processen zich tegelijkertijd afspelen binnen een cel, ontstaat er een bijzonder complex systeem van met elkaar verknoopte netwerken. Tientallen van deze netwerken samen vormen het besturingssysteem van de cel. Elk van deze netwerken, oftewel *signal transduction pathways* (Figuur 1), zijn een soort cellulaire informatiesnelwegen, bestaande uit tientallen verschillende eiwitten, hormonen, groeifactoren, ionen, neurotransmitters en vele andere moleculen. De cel is zo complex dat er een geheel nieuwe tak van wetenschap, de systeembioïologie, is ontstaan die gaat proberen om die kluwen in kaart te brengen. Maar zelfs met die kaart zullen we de werking van een cel niet begrijpen omdat

de kaart telkens verandert want de cel is geen statisch geheel maar een dynamisch, niet-evenwicht, systeem. Deze niet-evenwicht, dynamische situatie is precies de kern van het probleem, omdat er geen goede robuuste methoden zijn om zulke systemen te bestuderen. We weten dus gewoonweg niet hoe een cel reageert op een veranderende omgeving omdat dan binnen de cel al die netwerken uit balans raken en samen een nieuw evenwicht moeten vinden. De chemie van dit soort gekoppelde systemen is nooit eerder in detail onderzocht en is eigenlijk ook nooit een speerpunt van onderzoek geweest.



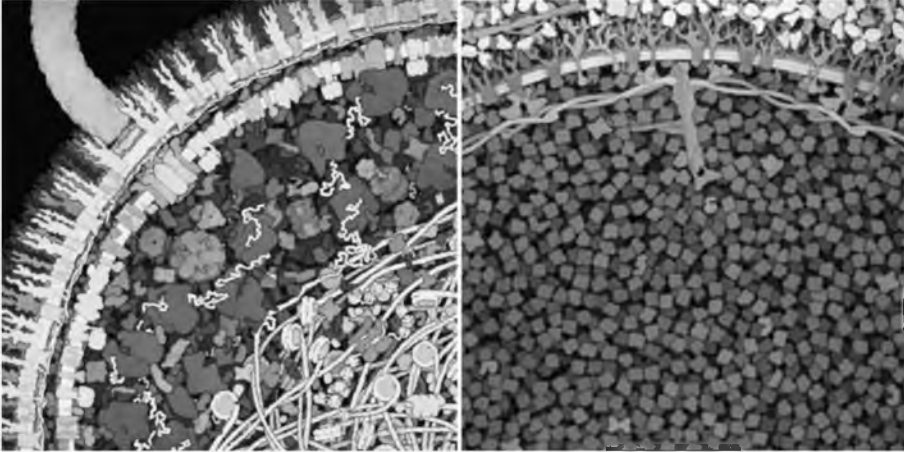
Figuur 1 Een voorbeeld van een *signal transduction pathway*

In de afgelopen paar jaar zijn er meerdere studies aan bacteriën verschenen die laten zien dat onze kennis van het metabolisme van cellen, oftewel van de set chemische reacties die de cel nodig heeft om in leven te blijven, lacunes vertoont. Ik zal hier eerst een aantal voorbeelden van geven voordat we gaan kijken naar hoe we kunstmatige modelcellen gaan bestuderen in mijn laboratorium.

In de biotechnologie probeert men om gemodificeerde bacteriën te gebruiken om voor de mens nuttige eiwitten zoals bijvoorbeeld insuline te produceren. Hoe kun je er nu voor zorgen dat de bacteriën zo veel en zo efficiënt mogelijk insuline aanmaken? Je zou heel veel voeding kunnen geven, maar dan gaan de cellen hard groeien en dus veel eiwitten aanmaken die we niet nodig hebben. Minder voeding zou het alternatief kunnen zijn, maar dan zet de cel alle machinerie in om in zijn eigen eerste levensbehoeften te voorzien en wordt de productie van insuline afgeknepen. Het blijkt dat het op dit moment gewoon nog niet mogelijk is om precies te voorspellen hoe zo'n bacterie het meeste insuline zal produceren, omdat we de complexe wisselwerking tussen alle dynamische systemen binnen een cel niet begrijpen. Een ander voorbeeld is vermeende resistentie van bacteriën tegen bepaalde antibiotica terwijl ze dat eigenlijk helemaal niet zijn. In een populatie van bacteriën die allemaal genetisch identiek zijn, heb je altijd een paar langzame groeiers. Dit betekent dat deze cellen gewoon minder voedingsstoffen opnemen, kleiner zijn en niet van plan zijn om snel celdeling te ondergaan. Dit heeft tot gevolg dat die bacteriën nauwelijks last hebben van antibiotica die op cellulaire processen als celdeling ingrijpen. Als deze bacteriën overleven en een nieuwe populatie opbouwen, gaat 99 procent gewoon weer dood. Hoe komt het dat sommige individuele bacteriën in zo'n populatie 'anders' zijn, waarschijnlijk zelfs alleen maar tijdelijk? Maakt u zich geen zorgen, er zitten geen bacteriën tussen met een eigen willetje. Het heeft alles te maken met de kleine aantallen van moleculen als DNA en RNA die betrokken zijn bij de fundamentele processen in de cel. Het is gewoon puur toeval dat in sommige individuele bacteriën die essentiële componenten net even nodig waren voor een ander proces en dat daardoor de hele bacterie in een andere toestand raakte.

DE CEL ALS PICOLITER REAGEERBUIS

Toeval als regulerend mechanisme voor leven of dood. Dit is ook voor de celbiologie een heel nieuw begrip en ik ben van mening dat het niet mogelijk zal zijn om dit werkelijk te begrijpen als we er alleen maar naar kijken vanuit een celbiologische optiek. We hebben een nieuw begrip nodig van de chemische reacties zoals die in cellen plaatsvinden. De cel is namelijk niet zomaar een zakje eiwitten in een picoliter waterdruppel. Als we een cel zouden bekijken op het niveau van moleculen, dan valt op dat bijna het hele volume in beslag genomen wordt door bijzonder hoge totale concentraties (van wel 20 tot 40% van het totale volume) aan vezels, lipiden, en eiwitten, maar dat de meeste van deze eiwitten en zeker het DNA en RNA slechts in zeer lage concentraties (op het niveau van een paar moleculen) aanwezig zijn (zie Figuur 2).



Figuur 2 Artist's impression van de binnenkant van een cel (getekend door David S. Goodsell, <http://mgl.scripps.edu/people/goodsell/illustration/public/>)

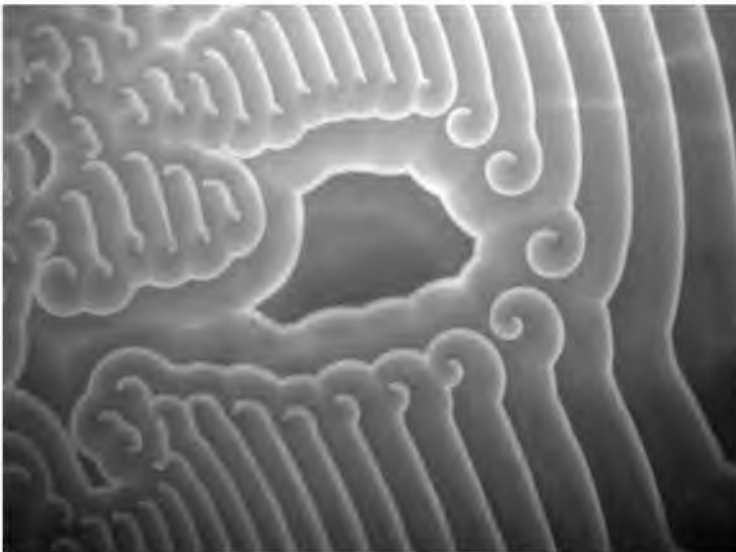
Door deze hoge concentraties is het voor moleculen moeilijk vrij te bewegen, en dit wordt in het Engels 'crowding' genoemd. Minder bewegingsvrijheid heeft als gevolg dat de diffusiecoëfficiënt (een maat voor de gemiddelde kwadratische verplaatsing per tijdseenheid) van grote eiwitten binnen cellen één tot twee ordes van grootte lager ligt dan in verdunde oplossingen. Diffusie wordt ook sterk afgeremd omdat er naast het celmembraan dat 'binnen van buiten' scheidt, ook nog meer dan $100.000 \mu\text{m}^2$ aan interne membraanoppervlak is. Zodoende is er elke 20-30 nm een interne 'muur' in de vorm van een lipide dubbellaag. Nieuwe ontwikkelingen in fluorescentiemicroscopie hebben het mogelijk gemaakt om de diffusie van fluorescerende eiwitten in levende cellen te volgen. Uit deze metingen is gebleken dat de diffusieconstante voor bijvoorbeeld *green fluorescent protein* (GFP) in een verdunde oplossing $95 \mu\text{m}^2/\text{s}$ is, maar binnen de cel (in het cytoplasma) slechts $17 \mu\text{m}^2/\text{s}$ en in de celkern waarschijnlijk onder de $10 \mu\text{m}^2/\text{s}$. Als met dezelfde meting een klein molecuul gevolgd zou worden zou de diffusieconstante in de orde van grootte van $400 \mu\text{m}^2/\text{s}$ liggen. Ruwweg betekent dit dat het 10-50 keer langer duurt voordat een groot eiwit zich verplaatst van het celmembraan naar de kern dan een klein molecuul. Dit is natuurlijk heel belangrijk als we bedenken dat deze eiwitten deel uitmaken van de tientallen zo niet honderden verschillende reacties die tegelijkertijd plaatsvinden, die allemaal met elkaar concurreren om die schaarse moleculaire bouwstenen.

De verschillen tussen intracellulaire omstandigheden en een verdunde oplossing zijn misschien beter in te zien als we ons verplaatsen naar het dagelijkse leven. Stel, u

rijdt met uw auto door de Nijmeegse binnenstad en u kent de weg niet. Als alle wegen vrij toegankelijk en goed begaanbaar waren dan is de kans groot dat u a) verdwaalt en b) op een compleet willekeurig plek binnen de gemeente Nijmegen uit zou komen. In werkelijkheid is de binnenstad niet erg toegankelijk voor auto's; overal staan kleine files, er zijn eenrichtingsstraten en omleidingen, duizenden fietsers nemen de weg in bezit en voetgangers steken op willekeurig plekken over. De kans is groot dat u na verloop van tijd het gevoel krijgt dat u weer op het beginpunt bent aangekomen en in feite rondjes aan het rijden bent. Iets soortgelijks lijkt plaats te vinden in cellen. Wanneer de cellulaire machinerie begint met het uitlezen van DNA, bindt een aantal grote eiwitcomplexen tijdelijk aan de plekken waar de genetische informatie zich bevindt. Deze interactie is reversibel en na verloop van tijd maken de eiwitcomplexen zich los om hun reis over het DNA-molecuul voort te zetten. Wat als de eiwitten niet weg kunnen diffunderen en gewoon weer op hun beginpunt uitkomen? Dan wordt dat ene gen steeds weer opnieuw uitgelezen en worden er veel meer kopieën gemaakt van een bepaald eiwit dan misschien statistisch verwacht zou worden. Natuurlijk betekent dit voor een cel dat er bouwstenen verloren zijn gegaan die niet meer voor andere eiwitten gebruikt kunnen worden. En de concentratie van het eiwit in kwestie loopt steeds verder op; ook al omdat door gebrekkige diffusie het product zich niet over de hele cel kan verspreiden. Als deze situatie zich inderdaad voordoet, dan moet de cel zodanig geëvolueerd zijn dat deze afwijkingen van de reactiviteit ten opzichte van verdunde oplossingen een cruciaal onderdeel vormt van hoe de cel bestuurd wordt.

Ik heb tot nu toe vooral besproken hoe een gebrekkige diffusie ertoe leidt dat eiwitten zich langzamer of op een niet-intuïtieve manier verplaatsen binnen een cel. Dit beeld moet nu aangevuld worden met het effect van concentratieverschillen die ontstaan op verschillende plaatsen binnen de cel. In eukaryotische cellen (cellen met een celkern) zijn die reacties gecompartmentaliseerd in organellen; denk bijvoorbeeld aan de mitochondriën of aan de kern. Hoewel de meeste bacteriën geen organellen bezitten, zijn ook deze cellen verre van homogeen. In tegenstelling tot geconcentreerde oplossingen van bijvoorbeeld keuzenzout of suiker, vertonen oplossingen met meer dan 10 % polymeren (en eiwitten zijn polymeren) spontane ontmenging, of om met een meer chemische term te spreken: fase scheiding. Als men een suiker en zout oplossing bij elkaar brengt dan verwacht u volledige menging. Twee oplossingen met polymeren zullen echter ontmengen! In een cel zullen dus spontaan structuren ontstaan waar componenten met een zekere affiniteit voor elkaar ontmengt zijn van andere componenten. Omdat de concentraties van allerlei componenten in de cel niet homogeen zijn, ontstaan er concentratiegradiënten: fysisch-chemisch gezien is er namelijk een sterke drijvende kracht om alle moleculen gelijkmatig over een volume te verdelen. Dit houdt in dat moleculen op plekken met hoge concentraties moeten diffunderen naar plekken in de cel met lage concentraties. Binnen de cel is dit niet altijd mogelijk

vanwege membranen en dan ontstaat er een chemische potentiaal. Er zijn meerdere voorbeelden waarin de cel van een concentratieverschil gebruik maakt om deze chemische potentiaalenergie om te zetten in chemische energie of beweging. Zelfs als moleculen verder kunnen diffunderen, zullen ze tegelijkertijd met allerlei componenten van de cel in aanraking komen en mogelijk een reactie aangaan. Zodoende ontstaan zogeheten *reaction-diffusion networks*: er is een complex netwerk van reagerende en diffunderende moleculen. Dit netwerk is dynamisch en verandert op elk moment, afhankelijk van de concentraties van alle afzonderlijke deelnemers aan het netwerk. Hierbij komt die diffusieconstante weer kijken die ik eerder genoemd heb. In Fick's tweede wet van diffusie is met behulp van de diffusieconstante uit te rekenen hoe de concentratie van een materiaal op een afstand x van de oorsprong verandert in de tijd. Reaction-diffusion networks zijn al decennialang bekend in de chemie, denk bijvoorbeeld aan oscillerende reacties (Figuur 3).



Figuur 3 Spiraalvorming in een oscillerende Belousov-Zhabotinskyreactie.

Het inzicht dat deze netwerken ook in cellen voorkomen is echter vrij recent. Ik zou een aantal voorbeelden uit de celbiologie kunnen beschrijven, maar ook op veel grotere lengteschalen komen deze verschijnselen voor en ik zou een voorbeeld willen nemen uit het dierenrijk: de opbouw van een termietenheuvel. Termieten hebben geen architect in dienst die de heuvel heeft uitgetekend en een plan heeft gemaakt voor de bouw. De bouw

komt tot stand door zelforganisatie met maar twee ingrediënten: 1) fluctuaties in de hoeveelheid termieten per vierkante centimeter vanwege de *random walk* van wandelende termieten en 2) het oppakken of neerleggen van zandkorrels door de termieten. Telkens als de termieten een zandkorrel oppakken en neerleggen laten ze een geurstof achter op de zandkorrel. Het neerleggen van de zandkorrels is volkomen willekeurig, maar als er geurstof op de korrels zit, is de kans dat de termieten de korrel verslepen en op een plek neerleggen waar andere korrels met geurstof liggen groter. Met deze eenvoudige regels groeien er als vanzelf hoge torens zand, op regelmatige afstanden, en wordt zand van steeds verder weg aangesleept.

CROWDING

Hoeveel begrijpen we eigenlijk van hoe moleculen zich gedragen in zo'n milieu binnen een cel zoals hierboven geschetst? Een eerste antwoord is: niet zoveel. Alles wat we weten over biologische chemie komt van experimenten in verdunde oplossingen. Al in de jaren tachtig is echter aangetoond dat *crowding* een effect heeft op eiwitten en wel op twee manieren. Eiwitten kunnen twee verschillende toestanden aannemen. In het ene geval zijn ze actief, compact en opgevouwen; in het andere geval zijn ze gedenatureerd, dat wil zeggen uitgevouwen. Het vouwen van eiwitten in een complexe 3D-structuur is te vergelijken met origami papiervouwen. Als je ook maar een klein foutje maakt met vouwen, dan komt er geen fraaie kraanvogel of iets dergelijks te voorschijn. In het geval van eiwitten kan dit betekenen dat een giftige structuur wordt gevormd of dat het eiwit onoplosbaar wordt. In de ziekte van Alzheimer zorgen deze onoplosbare eiwitten voor plaques, met alle gevolgen van dien. Bij staar zijn het eiwitten in de ooglenzen die fout vouwen en vervolgens fasescheiding ondergaan. *Crowding* zorgt voor een stabilisatie van compacte structuren. De vloeistof in de ooglenzen is zo 'vol' is dat er zelfs geen plaats meer is voor eiwitten te ontvouwen en dus ook niet om vervolgens weer verkeerd te vouwen. Prof. Chris Dobson in Cambridge, een expert op het gebied van eiwitvouwen, heeft me eens voorgerekend dat naar zijn schatting de kans dat een eiwit in zo'n *crowded* omgeving verkeerd vouwt ongeveer eens in de zestig jaar is. Dat zou dus kunnen verklaren waarom ziekten als staar en Alzheimer pas op latere leeftijd een probleem gaan worden.

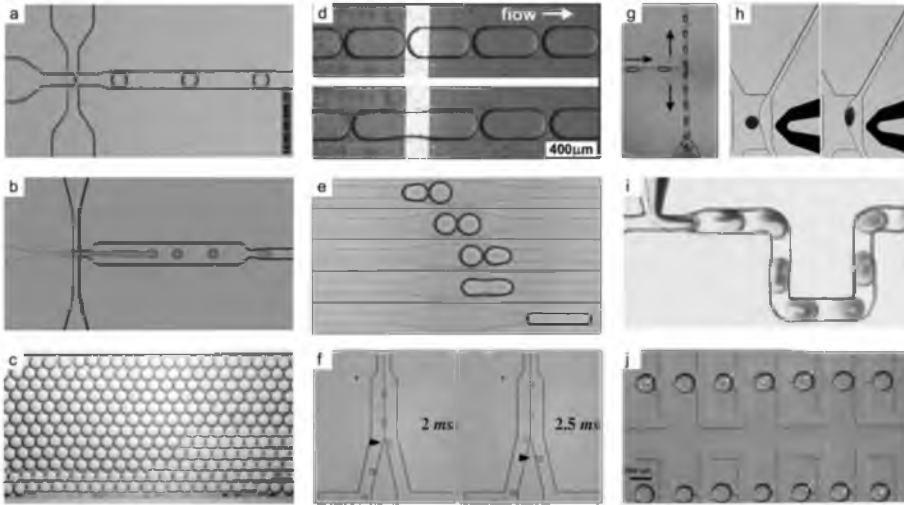
In zo'n dichte omgeving verandert niet alleen de vorm van eiwitten, er zijn veel studies die laten zien dat de snelheid waarmee enzymen werken met een factor 5-10 omhoog gaat wanneer ze in plaats van in een verdunde waterige oplossing, in een stroperige vloeistof bestudeerd worden. De reden hiervoor is dat het eiwit/enzym plus het substraat waarop dit enzym zal gaan werken samen meer plaats innemen dan wanneer het substraat sterk gebonden is aan het enzym en als het ware een deel vormt. Deze eerste stap – binding van het substraat aan het enzym – is vaak de langzaamste stap in de werking van het enzym en daardoor zorgt *crowding* voor een verhoging van de werking. Een voorbeeld dat bijzonder illustratief is in de context van mijn lezing is de invloed van macromoleculen op een enzym dat DNA-polymerase heet. Dit enzym is

betrokken bij DNA-replicatie en plakt aan elke groeiende nieuwe DNA-keten de juiste base. Wanneer polymeren worden toegevoegd om de interne omgeving binnen de celkern te simuleren blijkt dat de werking van het DNA-polymerase sterk verandert ten opzichte van een verdunde bufferoplossing. De voornaamste reden hiervoor is dat het enzym en het DNA sterker aan elkaar gebonden zijn. De *crowding* heeft dus als effect dat macromoleculen als het ware op elkaar geperst worden. De werking van het enzym is waarschijnlijk geëvolueerd om optimaal te functioneren binnen de dicht gepakte celkern. Maar polymerases worden ook op zeer grote schaal gebruikt in het zogeheten DNA-sequencing en daar worden ze in verdunde bufferoplossingen ingezet. Dus ook om praktische redenen is het belangrijk om de optimale condities voor de enzymatische werking te begrijpen, zelfs als het maar een factor vijf is. Bedenk namelijk dat al die eiwitten niet onafhankelijk van elkaar werken, maar deel uitmaken van al die complexe netwerken in de cel die wel uit tien stappen bestaan. Het product van het ene enzym is het substraat van het volgende. In dat geval zou het wel eens een factor vijf tot de tiende macht kunnen worden, oftewel 10 miljoen keer sneller. Eerlijkheid gebiedt me wel te vermelden dat er ook voorbeelden zijn waarbij enzymen net trager gaan werken dus het is niet altijd te voorspellen wat het effect van *crowding* zal zijn. Uiteindelijk kunnen we echter alleen maar tot een beter model van de cel komen door zowel de individuele componenten als de netwerken zelf in die speciale omgeving beter te gaan bestuderen. Ik denk dat we hier voor een grootse uitdaging staan. Chemie is in staat assemblage van moleculen onder evenwichtscondities te begrijpen. De cel is, hoewel ogenschijnlijk constant en in evenwicht, helemaal geen evenwichtstructuur maar een steady state structuur. Met andere woorden, alle processen samen houden elkaar in evenwicht maar vereisen ook een continue input van nieuwe energie. U zou het kunnen vergelijken als een soort roltrap. De roltrap draait rond en mensen worden duidelijk vervoerd, maar de structuur lijkt onveranderlijk. De grote uitdaging ligt hier in het begrijpen van de dynamiek van deze systemen en hoe de verschillende evenwichten met elkaar samenhangen, elkaar versterken of verzwakken en hoe ze veranderen onder invloed van externe stimulansen (denk aan temperatuur, concentratiegradiënten, of zelfs mechanische vervormingen). De cel is geen homogene soep van biomoleculen, maar is eerder te vergelijken met een goed georganiseerde 3D-computerchip. Een computerchip waarvan de circuits elk moment veranderen.... Het bestuderen van deze dynamische veranderingen van complexe netwerken binnen de cel is het uiteindelijke hoofddoel van mijn nieuwe onderzoeksgroep in Nijmegen.

CHEMIE IN DRUPPELS

De hierboven gestelde vragen kunnen niet beantwoord worden met behulp van levende cellen. De simpele reden hiervoor is dat het onmogelijk is de omstandigheden in cellen te veranderen zonder de cellen zodanig te ontwrichten dat ze eenvoudigweg doodgaan. Dit betekent dat we zo veel mogelijk het interieur van een cel moeten proberen na te

bootsen in een laboratorium. En daar komen de druppels van Lederberg waar ik het eerder over had bijzonder goed van pas. Zoals gezegd hebben de druppels ongeveer het volume van een cel, maar veel belangrijker is dat we zulke druppels met de nieuwste doorbraken in analytische chemie zodanig precies kunnen manipuleren dat we de druppels als individuele reageerbuisjes kunnen gebruiken. In de tijd van Joshua Lederberg werden de druppels geproduceerd als een mist. Dit betekent dat elke druppel een andere grootte en volume heeft, hetgeen betekent dat in elke druppel moleculen in andere concentraties aanwezig zijn. Elke druppel is dus wel een reageerbuisje, maar je kunt ze niet met elkaar vergelijken. Een ander probleem is dat zodra de druppels op de glasplaat, met daarop de laag olie, geïmmobiliseerd zijn, het erg lastig is om al die standaardhandelingen uit te voeren zoals reagentia toevoegen, roeren, verdunnen, concentreren, scheiden et cetera, et cetera. In de afgelopen vijf tot tien jaar is een compleet nieuwe tak van analytische chemie ontstaan waarbij water druppels in een continue stroom van olie door microscopisch kleine kanaaltjes in een microchip stromen. Het is mogelijk om enkele tot enkele tienduizenden druppels per seconde te produceren, waarbij elke druppel precies even groot is. De frequentie waarmee ze gevormd worden en het volume van de druppels wordt volledig bepaald door de relatieve stroomsnelheden van water en olie, door de grensvlakspanning tussen de twee vloeistoffen, en door de afmetingen van de kanaaltjes. Die kanaaltjes zijn klein, typische afmetingen liggen rond de dikte van een haar, maar dit soort afmetingen worden tegenwoordig al niet meer als klein beschouwd. Het is dan ook vrij eenvoudig om al deze microchips zelf te maken en ook al hebben we veel geld uitgegeven aan de inrichting van het laboratorium met microscopen en supersnelle videocamera's, de microchips zelf zijn gemaakt van de kit die u thuis gebuikt om de douchebak waterdicht mee te maken. Deze kit heet in het lab PDMS oftewel poly(dimethyl)siloxaan, en heeft de perfecte eigenschappen voor de toepassing die wij in gedachten hebben. Een fijne bijkomstigheid is dat PDMS hooguit een paar honderd euro per kilo kost en daar kunnen we jaren mee vooruit. In de afgelopen vijf jaar heeft mijn groep in Cambridge een hele serie modules ontwikkeld waarmee het mogelijk is geworden alle standaard operaties die normaal gesproken in het laboratorium gebruikt worden om kleine volumes te manipuleren en te pipetteren ook in een chip uit te voeren (Figuur 4).



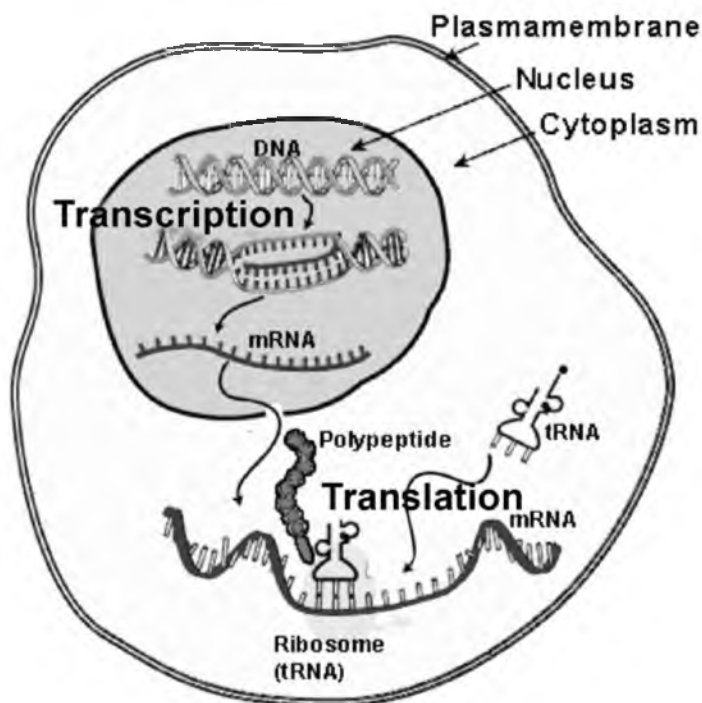
Figuur 4 Modules om druppels op een chip te manipuleren

Bovendien kan de inhoud van die druppels bepaald worden met een reeks analytische technieken zoals fluorescentiemicroscopie en massaspectrometrie. We hebben nu een experimenteel platform waar in feite een heel chemisch laboratorium zoals we dat al honderden jaren kennen, is verkleind zodat het makkelijk onder een microscoop past. Vanwege deze miniaturisatie kunnen we duizenden druppels tegelijkertijd als reactiekolfje gebruiken, waar we normaliter slechts één cuvette zouden hebben en één reactie per experiment ter beschikking hebben. Al deze druppels zijn volkomen identiek zowel qua volume als qua inhoud. De data die we genereren per experiment zijn dus van veel betere kwaliteit, omdat we veel meer datapunten hebben.

NAAR EEN KUNSTMATIGE CEL: IN VITRO TRANSCRIPTIE EN TRANSLATIE

De grote vraag is nu: welke reactie moeten we in onze picoliter druppels gaan bestuderen. Natuurlijk zouden we kunnen beginnen met een heel scala aan enzymatische reacties, maar dan is het lastig kiezen welke reactie nu de beste zou zijn om nieuwe inzichten te genereren. Ik wil dus zo dicht mogelijk bij de levende cel blijven. Eigenlijk zou ik een cel willen leegkieperen in een druppel en precies doen alsof de druppel de cel is. Het mooie is dat dit min of meer mogelijk is. Er is een speciale 'kit' te koop die alle componenten bevat die cellen nodig hebben om van DNA eiwitten te maken (en je kunt extracten van bacteriële, gist- of konijnencellen kopen). Dit betekent dat we niet naar een individuele

enzymatische reactie gaan kijken, maar naar de hele complexe reeks van reacties die nodig is om DNA om te zetten in RNA (transcriptie) en RNA vervolgens om te zetten in eiwitten (translatie) (Figuur 5).



Figuur 5 Schematische weergave van het proces van DNA-transcriptie naar RNA en de translatie van RNA naar eiwit (polypeptide) door het ribosoom Bron: (<http://www.vcbio.science.ru.nl/en/virtuallessons/cellcycle/trans/>)

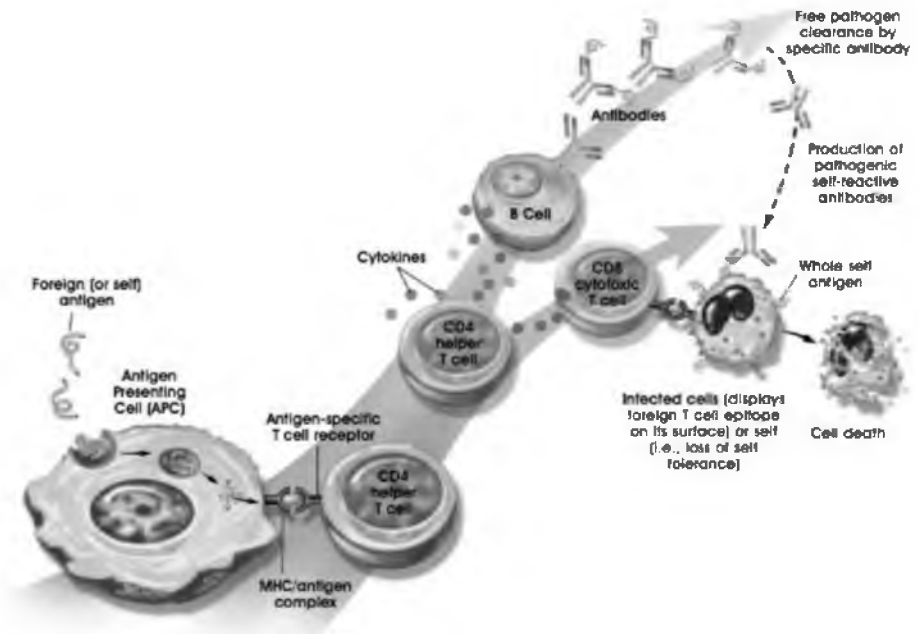
Het DNA dat in de druppels gaat hoeft natuurlijk niet zo ingewikkeld te zijn als het DNA dat normaal in een bacterie, gist of konijnencel zit. Je kunt gewoon DNA kopen dat maar één eiwit codeert, idealiter een eiwit dat van nature fluoresceert zoals het eerder genoemde GFP. Mijn 'druppelcellen' zijn dus een bijzondere simpele vorm van 'leven', maar dat zorgt ervoor dat het makkelijk is om te volgen wat er gebeurt als de omgeving

binnen de druppel verandert. Wat gebeurt er als er vanuit één molecuul DNA GFP gemaakt moet worden in twee keer zo geconcentreerde oplossingen? Of wat als de druppel een tien keer kleiner volume heeft? Zien we verschillen tussen verschillende druppels en waar komen die verschillen vandaan? Als we een stukje DNA hebben dat twee verschillende kleuren fluorescerende eiwitten kan maken, zien we beide kleuren dan in gelijke mate? Als we duizenden identieke druppeltjes met elkaar vergelijken en we zien minieme verschillen, dan betekent dit dat we naar 'ruis' kijken. Maar de ruis kan ons nu net nieuwe informatie opleveren omdat we die we op een macroscopische schaal en met een groot aantal DNA-moleculen in de 'soep' nooit kunnen waarnemen. Ik weet het antwoord op deze vragen niet en ik denk ook niet dat met het beantwoorden van deze vragen mijn onderzoek afgerond zal zijn. Er zijn veel ingewikkelder constructies denkbaar waarbij een synthetisch netwerk wordt gemaakt waarbij de transcriptie van het DNA bijvoorbeeld geremd of juist versneld wordt door het eiwitproduct waar het DNA voor codeert. Daarmee worden *feedback loops* gecreëerd die ook vast en zeker door *crowding* zullen worden beïnvloed. Een ander idee waar ik mee speel is om het DNA bijvoorbeeld in een gelbolletje in te kapselen. Daarmee wordt het druppeltje in feite een eukaryotische druppel met een celkern. En zo is de druppel niet langer homogeen, maar treden er reactie-diffusieprocessen op zoals ik die hierboven beschreven heb. Ik zou hier nog langer over door kunnen praten, maar ik hoop dat ik u een voldoende beeld geschetst heb van de mogelijkheden die picoliter druppels bieden om als kunstmatige cellen gebuikt te worden.

LEVENDE CELLEN

Tot nu toe hebben we voornamelijk gekeken hoe we druppels kunnen gebruiken om de condities binnen cellen zo nauwkeurig mogelijk na te bootsen. Een druppel heeft echter nog een eigenschap die we willen uitbuiten: oorzaak en gevolg zitten altijd bij elkaar. Denk bijvoorbeeld aan de *in vitro* transcriptie en translatie die ik zojuist besprak. Zowel het DNA, de informatiedrager, als het product, het GFP, zitten in dezelfde druppel. Denk nu eens aan cellen die misschien een beetje lek zijn, of die een signaal afgeven aan de buitenwereld. Als je een heleboel cellen bij elkaar hebt en je meet wat er in de vloeistof zit waarin de cellen gekweekt worden dan is het ten eerste heel moeilijk die nu zeer verdunde stoffen uit de cellen te meten en ten tweede is niet precies te herleiden van welke cel deze stoffen kwamen. Laten we nog eens terugdenken aan dat briljante experiment van Joshua Lederberg en de productie van antilichamen door cellen van het afweersysteem. Inmiddels is onze kennis van het immuunsysteem steeds verder verfijnd, met als voornaamste gevolg dat ik al helemaal de draad kwijt ben voor ik ook maar een halve pagina van een recent overzichtsartikel gelezen heb. Gelukkig hebben we hier in Nijmegen een grootheid op het gebied van de immunologie in de persoon van prof. Carl Figdor. Hij is een specialist op het gebied van dendritische cellen, verwant aan de cellen in Lederbergs experimenten. Deze cellen spelen een rol in één van de eerste

stappen van een afweerreactie door lichaamsvreemde stoffen op te nemen en vervolgens op hun celoppervlak te presenteren. De cellen komen dan in contact met zogeheten T-cellen en dan gaat het balletje rollen omdat cellen allerlei alarmsignalen gaan uitzenden (Figuur 6).



Figuur 6 Schematische weergave van de immuunrespons na prikkeling met een lichaamsvreemde stof.

Deze alarmsignalen heten cytokines en er zijn standaardtesten ontwikkeld om de aanwezigheid van deze cytokines in het bloed na prikkeling van het afweersysteem te meten. Het probleem is dat de concentraties van cytokines enorm laag zijn en dat er een heel spectrum van verschillende cytokines is. Heel eenvoudige vragen – als: produceren alle cellen van een bepaald type cytokines, produceren ze allemaal ongeveer evenveel, op dezelfde tijd, en naar aanleiding van dezelfde intensiteit van stimulatie – zijn allemaal niet te beantwoorden omdat je een meting doet aan de alarmmoleculen die zich al verspreid hebben in het bloed. Ik denk dat we met ons druppelplatform een kans hebben om deze vragen wel te kunnen beantwoorden. Als we namelijk die dendritische cel en een T-cel in één druppel opsluiten dan worden alle cytokines in diezelfde druppel

gevangen. Als we dan een methode hebben om per druppel de cytokinesamenstelling te meten, dan kunnen we de cytokinesamenstelling en hoeveelheid per cel meten. Hiermee krijgen we een enorm gedetailleerd overzicht van de respons van individuele cellen.

Dit eerste project op het gebied van de immunologie is nog maar een begin. Buiten de immunologie denk ik dat metingen aan druppels met daarin individuele cellen een enorme revolutie in de celbiologie in het algemeen tot gevolg zullen hebben, met ongetwijfeld toepassingen op medisch gebied. Ik zal proberen om de geweldige mogelijkheden tot toepassingen te schetsen: laten we aannemen dat in de komende vijf jaar het bepalen van het totale menselijk genoom (of in elk geval van alle interessante gebieden daarvan) routine wordt en elke baby bij geboorte wordt 'gesequenced'. Daarmee weet je dat een individu een bepaalde kans heeft om later in het leven een ziekte (bijvoorbeeld kanker) te ontwikkelen. Dat is belangrijk, maar niet zo heel erg nuttig, want uw dokter kan u niet behandelen voor een ziekte die u nog niet heeft. Hoe weet je dan wanneer je moet ingrijpen in een ogenschijnlijk gezonde 'patiënt'. Het is een beetje te vergelijken met het kopen van een auto: als je de specificaties van de autofabrikant bekijkt, zou mijn Volvo heel wat zuiniger moeten kunnen rijden en krachtiger moeten kunnen optrekken. Alleen, dat was toen de auto gloednieuw was; nu is hij meer dan vijf jaar oud en 100.000 kilometer verder. Hetzelfde geldt voor de mens: het DNA geeft de specificaties, maar daarmee weet je niet hoe het er op een willekeurig moment in het leven voor staat. We moeten het DNA (of nog liever het RNA of individuele eiwitten) uitlezen niet op het niveau van een organisme, waar we het gemiddelde van alle cellen samen bepalen, maar op het niveau van individuele cellen. Om een schrikbarend voorbeeld te geven: kankers die gaan uitzaaien sturen cellen uit die in het bloed terechtkomen. Kankerpatiënten die meer dan vijf van dit soort cellen in 7 (mL) bloed hebben, hebben een bijzonder slechte prognose. Vijf cellen, ten midden van miljoenen witte bloedcellen en miljarden rode bloedcellen die ook in die 7 mL zitten. Als een dokter bloed afneemt en gaat proberen met zelfs de meeste gevoelige test die vijf cellen te vinden zal het nooit lukken. Maar de hierboven geschetste methode om cellen uit het immuunsysteem individueel te bekijken is in principe ook in staat om miljarden cellen uit 7 mL bloed individueel te meten. Dit kost niet eens zoveel tijd: met 10.000 druppels per seconde is het mogelijk in vijf uur bijna twee miljard druppels te maken en te meten. En één cel in één druppel is natuurlijk helemaal niet verdund, dus we kunnen ook zeer zeldzame of moeilijk te detecteren biomarkers gebruiken om de zogeheten *circulating tumor cells* te vinden. Om deze toepassingen in praktijk te brengen zijn er investeringen nodig die niet zijn op te brengen binnen een universitaire groep. Samen met een collega in Cambridge heb ik dan ook een bedrijf opgericht, *Sphere Fluidics*, om picoliter druppels op een commerciële manier verder te ontwikkelen. Wij zijn niet het enige bedrijf dat druppels wil gebruiken: in het afgelopen zijn er zeker drie bedrijven in de Verenigde Staten bijgekomen. Ik ben ervan overtuigd dat binnen vijf jaar de druppeltechnologie het lab verlaten zal hebben en zal zijn ingeburgerd in de laboratoria van grote ziekenhuizen.

CONCLUSIES EN AANBEVELING

De revolutie in de genetica, denk aan het ontrafelen van het menselijk genoom, heeft een gedetailleerde lijst van onderdelen voor een levende cel geleverd. De werking van de afzonderlijke onderdelen wordt stapje voor stapje zichtbaar en zal uiteindelijk resulteren in een overzichtskaart waarop alle dwarsverbanden aangegeven zijn. Wat echter ontbreekt is een begrip van hoe het collectief van deze interacties daadwerkelijk een levende cel vormt. Het is mijn ambitie om een bijdrage te leveren aan dit begrip door het bestuderen van de invloed die de fysieke omgeving binnen een cel heeft op de vele reacties die daar plaatsvinden. Ik denk dat de tijd rijp is om de cel, de meest complexe chemische reactor die er is, in al zijn complexiteit te gaan bestuderen. Picoliter druppels zullen daarbij van onschatbare waarde zijn omdat daarmee afgedaald kan worden tot cellulaire volumes, waarbij we de inhoud van de druppel precies kunnen controleren en meten. Als we in staat zijn de interne werking van cellen op chemisch niveau te begrijpen is dit niet alleen interessant voor een selecte groep wetenschappers, maar kan dit uiteindelijk tot nieuwe medicijnen leiden. Ik denk dat het essentieel is dat we leren hoe de cel als chemische reactor werkt. Uiteindelijk beginnen ziektes als bijvoorbeeld kanker met een verkeerd functionerende cel. Daarom is elk begrip van hoe een cel eigenlijk precies functioneert ook van direct belang voor het begrijpen van ziekten waarbij cellen afwijkend gedrag vertonen. Bovendien hebben medicijnen een effect op moleculair niveau binnen de cel. We kunnen pas echt gericht medicijnen ontwikkelen als we niet alleen weten hoe het medicijn een bepaald onderdeel van een cel beïnvloedt, maar ook hoe dat onderdeel in verbinding staat met de rest van de cel. Toepassingen in de richting van vroege diagnose van kanker of andere ziekten zoals afwijkingen in het immuunsysteem zijn denkbaar als we niet alleen druppels gebruiken als kunstmatige cellen maar ook om 'echte' cellen in op te sluiten en te bestuderen. De celbiologie heeft bijzonder weinig instrumenten om kwantitatieve metingen te doen en met de experimenten die ik hierboven genoemd heb, is het voor het eerst mogelijk om grote aantallen cellen te isoleren en individueel door te meten. Laten we ook de chemische industrie niet vergeten. Een samenleving zonder chemie is compleet ondenkbaar; we zouden geen kleding meer hebben, de energievoorziening zou haperen, de voedselvoorziening zou in gevaar komen en onze gezondheid zou op het spel staan. Toch zijn er verbeteringen nodig. We zullen alternatieven moeten vinden voor fossiele brandstoffen, voor energieverblindende productieprocessen en voor milieuvriendelijke productiemethoden. Op al deze gebieden kunnen we veel leren van die cellulaire reactor die werkt bij 37 graden Celsius in water.

Ik denk dat ik hiermee ook een mooie verbinding heb aangegeven hoe fundamenteel wetenschappelijk, nieuwsgierig onderzoek een bijdrage levert aan de maatschappij. Recent heeft u allen kunnen lezen dat de regering fors wil bezuinigen op investeringen in wetenschappelijk onderwijs en onderzoek. Ten eerste komt dit uit de koker van mensen die elf jaar over een studie hebben gedaan. Ten tweede is zo'n bezuiniging absoluut niet te rijmen met de ambitie om Nederland tot de wereldwijde top vijf van kenniseconomieën

te laten horen. Veel ernstiger is dat een dergelijk beleid getuigt van een verregaand onbegrip van hoe fundamentele wetenschappelijke inzichten tot praktische toepassingen en de daarmee gepaard gaande economische vooruitgang leiden. Innovatie en valorisatie van universitair onderzoek komen in een stroomversnelling door het samenkomen van de beste wetenschappers, rasondernemers, en de beschikbaarheid van hoogopgeleide mensen en durfkapitaal. In Nederland is er een tekort aan durfkapitaal en een tekort aan rasondernemers. De overheid zou er goed aan doen het oprichten van een bedrijf veel eenvoudiger te maken en initiatieven te ontwikkelen die beschikbaarheid van kapitaal te vergroten. Als we tot de top vijf van kennislanden willen behoren zal dit investeringen in universitair onderzoek vergen, want hier ligt de bron van al die kennis hetzij in directe vindingen, hetzij in wetenschappelijk geschoold personeel.

Tot slot nog een opmerking over de opleiding van studenten, ook veelvuldig in het nieuws. Vijf jaar geeft de universiteit voldoende tijd om studenten een geweldige hoeveelheid vakkennis bij te brengen en ze te vormen tot zelfstandige denkers die problemen kunnen oplossen. Ik zie het als mijn taak die opleiding ook voortdurend bij te stellen zodat onze studenten ook op de hoogte zijn van de allernieuwste ontwikkelingen. Net omdat die ontwikkelingen steeds verder weg drijven van de traditionele vakgebieden binnen de chemie, natuurkunde en biologie, ben ik bijzonder onder de indruk van het brede programma-aanbod gespreid over al die disciplines dat de studenten hier in Nijmegen voorgeschoteld krijgen. Ik deel de kritiek die ik soms hoor van onze grote bedrijven – dat onze studenten te *Weltfremd* zijn en te weinig weten van economie en *business* – in het geheel niet. De universiteit verzorgt wetenschappelijk onderwijs. Ik zie het niet als onze taak om studenten op te leiden tot manager. Dat kunnen bedrijven heel goed zelf en dan kunnen ze ook precies bepalen wat hun kersverse nieuwe werknemers leren. Liever zou ik zien dat de grote chemische bedrijven zelf meer onderzoek doen en zich minder laten leiden door korte termijn resultaten en aandeelhouders die voornamelijk naar de financiële vorm en niet naar de chemische inhoud kijken. Op dit moment denk ik dat het vooral de kleine ‘start-up’ bedrijven zijn die het initiatief genomen hebben om met vernieuwend, spannend en gedurfd onderzoek de markt open te breken. Bijna al mijn promovendi in Cambridge zijn dan ook bij dat soort bedrijven terecht gekomen omdat ze daar echt een bijdrage aan het slagen van de onderneming kunnen leveren.

DANKWOORD

Tenslotte wil ik aan het eind van mijn oratie een woord van dank uitspreken aan diegenen die ertoe bijgedragen hebben dat ik hier vandaag als hoogleraar voor u kan staan.

Geachte leden van het college van bestuur en besturen van de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica en het Instituut voor Moleculen en Materialen. Allereerst wil ik u van harte bedanken voor het vertrouwen om mij in deze functie aan te stellen en om mijn overstap vanuit Cambridge ook financieel mogelijk te

maken. In deze context wil ik prof. Roeland Nolte bijzonder danken voor zijn inspanningen voor en achter de schermen. Ik kan niet anders zeggen dan dat ik hier toch in een gespreid bedje terechtgekomen ben. Ik zal mijn best doen om als jouw opvolger de geweldige reputatie die Nijmegen heeft opgebouwd hoog te houden en de ambitie is er ook om de lat in de toekomst nog hoger te leggen.

Ik wil ook mijn promotor, prof. David Reinhoudt, danken voor de uitstekende basis die hij heeft gelegd voor mijn academische carrière. Zoals het een goede wetenschapper betaamt, was ik het vaak niet eens met je ideeën, maar daarom moest ik natuurlijk wel dubbel zo hard werken om met een beter alternatief te komen. Jouw steun bij mijn eerste stappen buiten Nederland, eerst op het lab van prof. Whitesides en daarna in Cambridge hebben me een enorme duw in de rug gegeven. Dankzij het fundament gelegd in Twente sta ik nu stevig genoeg om in Nijmegen de nieuwe uitdaging aan te gaan.

Ondanks de vele jaren in het buitenland was ik de band met Nederland nooit helemaal verloren en dat is ook de verdienste van prof. Bert Meijer. Jij moedigde me aan om altijd verder dan Cambridge te blijven kijken en was altijd voldoende kritisch over mijn onderzoek. Je maakte me duidelijk dat ik lang genoeg aan polymere borsteltjes had gewerkt en dat het tijd werd om eens een serieus onderwerp uit te kiezen. Bij deze.

Mijn collega's hier in Nijmegen van het Instituut voor Moleculen en Materialen en vooral de hooggeleerde heren Rowan, Van Hest en Rutjes hebben ervoor gezorgd dat ik me vanaf het eerste moment meer dan welkom heb gevoeld. De collegiale sfeer zorgt voor een creatieve en bruisende omgeving en ik denk dat dit de wetenschappelijke resultaten ten goede komt. Alle hulp en advies op het gebied van *in vitro* eiwitexpressie van dr. Kerstin Blank heb ik enorm gewaardeerd en heeft ons al voor vele beginnersfouten behoed.

Mijn ouders waren de eersten die meteen ervan overtuigd waren dat mijn nieuwe start in Nijmegen een goede beslissing was en hebben nooit gevraagd waarom ik Cambridge zou willen verlaten. Mijn dank voor jullie onbegrensde vertrouwen.

Datzelfde vertrouwen schenken Jelbrich, Hidde en Amerins mij dagelijks. Jelbrich, je bent mijn steun en toeverlaat en mijn prioriteit voor jou wil ook beter vertalen naar tijd voor jou. Hidde en Amerins, het is niet makkelijk om 'jullie' Engeland achter te moeten laten en ik ben trots op hoe jullie je door alle veranderingen hebben heen gebokst. Ik zie een zonnige toekomst in Nijmegen.

Ik heb gezegd

